



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115612628 A

(43) 申请公布日 2023. 01. 17

(21) 申请号 202210029348.8

C12R 1/84 (2006.01)

(22) 申请日 2022.01.12

(71) 申请人 上海国龙生物科技有限公司

地址 201612 上海市松江区书海路1505号

(72) 发明人 朱佑民 张慧 金玉叶 张文荟

(74) 专利代理机构 南京禾易知识产权代理有限公司

公司 32320

专利代理师 段文静

(51) Int. Cl.

C12N 1/19 (2006.01)

C12N 15/81 (2006.01)

C12N 15/53 (2006.01)

C12N 15/54 (2006.01)

C12P 19/18 (2006.01)

C12P 19/00 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

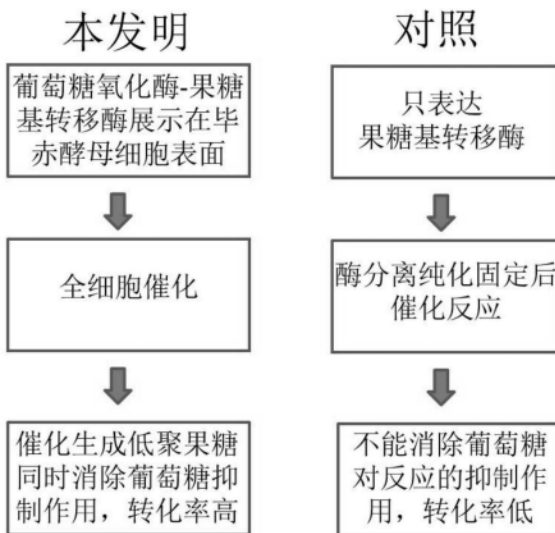
序列表11页 附图1页

(54) 发明名称

毕赤酵母、其制备方法及其在催化蔗糖生产低聚果糖中的应用

(57) 摘要

本发明公开了一种毕赤酵母,其细胞表面表达如SEQ ID No.7所示的蛋白。还公开了其在催化蔗糖生产低聚果糖中的应用,及其制备方法。本发明将葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶融合酶展示在毕赤酵母表面,采用该毕赤酵母全细胞催化生产低聚果糖,在生产的同时消除葡萄糖对反应的抑制作用,可以有效提高低聚果糖的转化率。且本发明还发现,表面展示葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶融合酶的毕赤酵母比果糖基转移酶-葡萄糖氧化酶融合酶的毕赤酵母在催化生产低聚果糖时酶活更高,低聚果糖的转化率更高。因此,本发明的毕赤酵母可用于生产低聚果糖并提高低聚果糖的转化率。



1. 一种毕赤酵母,其特征在于其细胞表面表达如SEQ ID No.7所示的蛋白。
2. 权利要求1所述的毕赤酵母在催化蔗糖生产低聚果糖中的应用。
3. 根据权利要求2所述的应用,其特征在于其步骤包括:收集培养的毕赤酵母全细胞,将毕赤酵母全细胞加入蔗糖水溶液中进行反应,制得低聚果糖。
4. 权利要求1所述的毕赤酵母的制备方法,其特征在于其步骤包括:
  - (1) 化学合成如SEQ ID No.6所示的融合基因anc-L-gody-L-ftfx;
  - (2) 将步骤(1)合成的融合基因片段和载体pPIC9K分别经EcoRI和NotI双酶切;
  - (3) 将酶切后的融合基因片段与酶切后的pPIC9K载体连接,将融合基因构建到载体pPIC9K中;
  - (4) 将连接产物转化入大肠杆菌感受态细胞,筛选出阳性克隆;
  - (5) 培养大肠杆菌感受态细胞阳性克隆,从中抽提质粒pPIC9K-anc-L-gody-L-ftfx;
  - (6) 将质粒pPIC9K-anc-L-gody-L-ftfx线性化;
  - (7) 将线性化的质粒电转化入毕赤酵母感受态细胞,筛选出阳性克隆,得到表面表达葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶融合酶的毕赤酵母。
5. 根据权利要求4所述的毕赤酵母的制备方法,其特征在于:步骤(3)中采用T4 DNA连接酶连接酶切后的融合基因片段与酶切后的pPIC9K载体。
6. 根据权利要求4所述的毕赤酵母的制备方法,其特征在于:步骤(6)中将质粒用SacI酶切线性化。

## 毕赤酵母、其制备方法及其在催化蔗糖生产低聚果糖中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种毕赤酵母、其制备方法及其在催化蔗糖生产低聚果糖中的应用，属于合成生物学领域。

### 背景技术

[0002] 现有技术通过单一的表达果糖基转移酶，将酶分离纯化固定后催化蔗糖生产低聚果糖，或者使用2次发酵技术分别表达果糖基转移酶与葡萄糖氧化酶，然后将果糖基转移酶与葡萄糖氧化酶分别分离纯化固定后共同催化蔗糖生产低聚果糖。单一的表达果糖基转移酶再将酶分离纯化固定后催化蔗糖生产低聚果糖时，在反应过程中会产生葡萄糖副产物，对生产低聚果糖的反应有抑制作用，使得低聚果糖的转化率很低。在使用2次发酵技术分别表达果糖基转移酶与葡萄糖氧化酶，然后将果糖基转移酶与葡萄糖氧化酶分别分离纯化固定后共同催化蔗糖生产低聚果糖时，发酵次数多，分离纯化步骤繁琐，使得发酵的效率低成本高。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种表面表达葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶融合酶的毕赤酵母。

[0004] 本发明采取的技术方案为：

[0005] 一种毕赤酵母，其特征在于其细胞表面表达如SEQ ID No.7所示的蛋白。

[0006] 本发明还公开了上述的毕赤酵母在催化蔗糖生产低聚果糖中的应用。

[0007] 优选的，其步骤包括：收集培养的毕赤酵母全细胞，将毕赤酵母全细胞加入蔗糖水溶液中进行反应，制得低聚果糖。

[0008] 本发明还公开了上述的毕赤酵母的制备方法，其特征在于其步骤包括：

[0009] (1) 化学合成如SEQ ID No.6所示的融合基因anc-L-gody-L-ftfx，其中融合基因序列包含毕赤酵母锚定蛋白基因序列、葡萄糖氧化酶基因序列和果糖基转移酶基因序列，毕赤酵母锚定蛋白基因序列、葡萄糖氧化酶基因序列和果糖基转移酶基因序列三者以融合基因形式连接，毕赤酵母锚定蛋白基因序列与葡萄糖氧化酶基因序列之间有连接肽序列，葡萄糖氧化酶基因序列与果糖基转移酶基因序列之间有连接肽序列，融合基因序列两端包含EcoRI和NotI的酶切位点序列，以及载体pPIC9K的同源臂序列；

[0010] (2) 将步骤(1)合成的融合基因片段和载体pPIC9K分别经EcoRI和NotI双酶切；

[0011] (3) 将酶切后的融合基因片段与酶切后的pPIC9K载体连接，使融合基因构建到载体pPIC9K中；

[0012] (4) 将连接产物转化入大肠杆菌感受态细胞，筛选出阳性克隆；

[0013] (5) 培养大肠杆菌感受态细胞阳性克隆，从中抽提质粒pPIC9K-anc-L-gody-L-ftfx；

[0014] (6) 将质粒pPIC9K-anc-L-gody-L-ftfx线性化;

[0015] (7) 将线性化的质粒电转化入毕赤酵母感受态细胞,筛选出阳性克隆,得到表面表达葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶融合酶的毕赤酵母。

[0016] 优选的,步骤(3)中采用T4 DNA连接酶连接酶切后的融合基因片段与酶切后的pPIC9K载体。

[0017] 优选的,步骤(6)中将质粒用SacI酶切线性化。

[0018] 本发明具有以下有益效果:

[0019] 本发明将葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶融合酶展示在毕赤酵母表面,采用该毕赤酵母全细胞催化生产低聚果糖,在生产的同时消除葡萄糖对反应的抑制作用,可以有效提高低聚果糖的转化率。且本发明还发现,表面展示葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶融合酶的毕赤酵母比果糖基转移酶-葡萄糖氧化酶融合酶的毕赤酵母在催化生产低聚果糖时酶活更高,低聚果糖的转化率更高。因此,本发明的毕赤酵母可用于生产低聚果糖并提高低聚果糖的转化率。

## 附图说明

[0020] 图1为本发明与现有技术相比的流程对照图。

[0021] 图2为本发明与现有技术相比的低聚果糖转化率对照图。图中标记:A:对比例1中使用表面展示果糖基转移酶-葡萄糖氧化酶的毕赤酵母全细胞催化蔗糖产低聚果糖,转化率约为50%;B:使用实施例1的表面展示葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶毕赤酵母全细胞催化蔗糖产低聚果糖,转化率达到60%以上;C:对比例2中单独使用果糖基转移酶分离纯化固定后催化蔗糖产低聚果糖,低聚果糖转化率约40%;D:葡萄糖对照;E:低聚果糖标准样对照;F:蔗糖对照。

## 具体实施方式

[0022] 为更进一步阐述本发明为实现预定发明目的所采取的技术手段及功效,以下结合附图及较佳实施例,对依据本发明的具体实施方式、结构、特征及其功效,详细说明如后。附图1可以展示本发明与现有技术相比的流程对照。

[0023] 对比例1将融合果糖基转移酶-连接肽-葡萄糖氧化酶展示在毕赤酵母细胞表面的方法及其在全细胞直接催化生产低聚果糖的应用,包括如下步骤:

[0024] (1) 优化毕赤酵母锚定蛋白基因、葡萄糖氧化酶基因、果糖基转移酶基因和连接肽的序列,如SEQ ID No.1、SEQ ID No.2、SEQ ID No.3和SEQ ID No.4;

[0025] (2) 化学合成如SEQ ID No.5所示的锚定蛋白-连接肽-果糖基转移酶-连接肽-葡萄糖氧化酶融合基因anc-L-ftfx-L-gody;融合基因序列两端包含EcoRI和Not1酶切位点序列和载体pPIC9K的同源臂序列;

[0026] (3) 载体pPIC9K均经EcoRI和Not1双酶切,酶切体系如下:

	片段/载体	49 $\mu$ L
	EcoRI	7 $\mu$ L
[0027]	Not1	7 $\mu$ L
	<u>10X buffer</u>	<u>7<math>\mu</math>L</u>
		70 $\mu$ L

[0028] (4) 将带有同源臂的融合基因片段anc-L-ftfx-L-gody和酶切后的pPIC9K载体重组,重组体系如下:

	线性化载体	20 $\mu$ L
	融合片段	10 $\mu$ L
[0029]	2X ClonExpress Mix	35 $\mu$ L
	<u>ddH<sub>2</sub>O</u>	<u>to 70<math>\mu</math>L</u>

[0030] (5) 将重组产物转化入大肠杆菌Top10感受态细胞;

[0031] (6) 涂布含氨苄青霉素的平板;

[0032] (7) PCR检测阳性克隆。菌检上游引物PF1:CAACCACCATCTCTTCCTTGC,下游引物PR1:GAGCCACGGAGATGTTTACA;

[0033] (8) 扩大培养并用质粒小提试剂盒抽提质粒,得到目的质粒p-anc-L-ftfx-L-gody;

[0034] (9) 质粒均用SacI酶切线性化,酶切体系如下:

	质粒	56 $\mu$ L
	SacI	7 $\mu$ L
[0035]	<u>10X buffer</u>	<u>7<math>\mu</math>L</u>
		70 $\mu$ L

[0036] (10) 跑1%的agarose琼脂糖凝胶确认质粒完全线性化;

[0037] (11) 将线性化的质粒电转化入毕赤酵母GS115感受态细胞中,220rpm条件下进行摇床培养1-2h,5000rpm离心5min收集菌体;

[0038] (12) 将菌体涂布在His缺陷平板上培养2-3天,挑选单菌落;

[0039] (13) 通过3-5mg/mL G418的平板筛选出含有融合基因的毕赤酵母菌p-anc-L-ftfx-L-gody;

[0040] (14) 将毕赤酵母工程菌p-anc-L-ftfx-L-gody转接入含有10-15mL BMGY培养基带透气塞的50mL离心管,在28 $^{\circ}$ C,220rpm条件下进行摇床培养至OD<sub>600</sub>=4-5;

[0041] (15) 5000rpm离心5min收集菌体;

[0042] (16) 菌体重悬于BMM培养基,220rpm条件下进行摇床培养,每24h加0.5%甲醇诱

导,培养4-5天,离心收集菌体;

[0043] (17) 以蔗糖为底物,使用全细胞催化蔗糖生产低聚果糖,反应体系如下:1ml底物(50%蔗糖)+10mg全细胞

[0044] 反应时间:3h

[0045] (18) 跑PLC检测酶切结果。结果如图2所示。

[0046] 对比例2单独表达果糖基转移酶的方法,包括如下步骤:

[0047] (1) 优化果糖基转移酶基因序列,如SEQ ID No.3;

[0048] (2) 化学合成如SEQ ID No.3所示的果糖基转移酶基因ftfx;基因序列两端包含EcoRI和Not1酶切位点序列和载体pPIC9K的同源臂序列;

[0049] (3) 基因片段和载体pPIC9K均经EcoRI和Not1双酶切,酶切体系如下:

片段/载体	49 $\mu$ L
-------	------------

EcoRI	7 $\mu$ L
-------	-----------

[0050] Not1	7 $\mu$ L
-------------	-----------

10X buffer	7 $\mu$ L
------------	-----------

---

70 $\mu$ L

[0051] (4) 将基因片段与酶切后的pPIC9K载体连接,连接体系如下:

线性化载体	21 $\mu$ L
-------	------------

片段	7 $\mu$ L
----	-----------

[0052] T4 连接酶	7 $\mu$ L
---------------	-----------

ddH <sub>2</sub> O	to 70 $\mu$ L
--------------------	---------------

[0053] (5) 将连接产物转化入大肠杆菌Top10感受态细胞;

[0054] (6) 涂布含氨苄青霉素的平板;

[0055] (7) PCR检测阳性克隆。菌检上游引物PF1:ACTGTCGCAGGAAATCAGCA,下游引物PR1:GCACCTGGGGCTACTGAAAT;

[0056] (8) 扩大培养并用质粒小提试剂盒抽提质粒,得到目的质粒p-ftfx;

[0057] (9) 质粒均用SacI酶切线性化,酶切体系如下:

质粒	56 $\mu$ L
----	------------

[0058] SacI	7 $\mu$ L
-------------	-----------

10X buffer	7 $\mu$ L
------------	-----------

---

[0059] 70 $\mu$ L

[0060] (10) 跑1%的agarose琼脂糖凝胶确认质粒完全线性化;

[0061] (11) 将线性化的质粒电转化入毕赤酵母GS115感受态细胞中,220rpm条件下进行

摇床培养1-2h,6000rpm离心5min收集菌体;

[0062] (12) 将菌体涂布在His缺陷平板上培养2-3天,挑选单菌落;

[0063] (13) 通过3-5mg/mL G418的平板筛选出含有融合基因的毕赤酵母菌pftfx;

[0064] (14) 将毕赤酵母工程菌p-ftfx转接入含有10-15mL BMGY培养基带透气塞的50mL离心管,在28℃,220rpm条件下进行摇床培养至OD600=4-5;

[0065] (15) 6000rpm离心5min收集菌体;

[0066] (16) 菌体重悬于BMM培养基,220rpm条件下进行摇床培养,每24h加0.5%甲醇诱导,培养4-5天;

[0067] (17) 离心去除菌体,得粗酶液;

[0068] (18) 酶纯化、固定;

[0069] (19) 以蔗糖为底物,使用果糖基转移酶催化蔗糖生产低聚果糖,反应体系如下:

1ml底物(50%蔗糖)+10u酶

[0070] 反应时间:3h

[0071] (20) 跑PLC检测酶切结果。结果如图2所示。

[0072] 实施例1将融合葡萄糖氧化酶-连接肽-果糖基转移酶展示在毕赤酵母细胞表面的方法及其在全细胞直接催化提高低聚果糖转化率中的应用,包括如下步骤:

[0073] (1) 优化毕赤酵母锚定蛋白基因、葡萄糖氧化酶基因、果糖基转移酶基因和连接肽的序列,如SEQ ID No.1、SEQ ID No.2、SEQ ID No.3和SEQ ID No.4;

[0074] (2) 化学合成如SEQ ID No.6所示的锚定蛋白-连接肽-葡萄糖氧化酶-连接肽-果糖基转移酶融合基因anc-L-gody-L-ftfx;融合基因序列两端包含EcoRI和NotI酶切位点序列和载体pPIC9K的同源臂序列;

[0075] (3) 融合基因片段和载体pPIC9K均经EcoRI和NotI双酶切,酶切体系如下:

片段/载体	70μL
EcoRI	10μL
[0076] NotI	10μL
10X buffer	10μL
<hr/>	
	100μL

[0077] (4) 将酶切后的融合基因片段与酶切后的pPIC9K载体连接,连接体系如下:

线性化载体	40μL
片段	20μL
[0078] T4 连接酶	10μL
ddH2O	to 100μL
<hr/>	

[0079] (5) 将连接产物转化入大肠杆菌Top10感受态细胞;

[0080] (6) 涂布含氨苄青霉素的平板;

[0081] (7) PCR检测阳性克隆。菌检上游引物PF1:TCTGCCTGGACTGAGTACCA,下游引物PR1:TGGCATGTCCCTGCTGATTT;

[0082] (8) 扩大培养并用质粒小提试剂盒抽提质粒,得到目的质粒p-anc-L-gody-L-ftfx;

[0083] (9) 质粒均用SacI酶切线性化,酶切体系如下:

	质粒	80 $\mu$ L
	SacI	10 $\mu$ L
[0084]	10X buffer	10 $\mu$ L
		<hr/>
		100 $\mu$ L

[0085] (10) 跑1%的agarose琼脂糖凝胶确认质粒完全线性化;

[0086] (11) 将线性化的质粒电转化入毕赤酵母GS115感受态细胞中,220rpm条件下进行摇床培养1-2h,4000rpm离心10min收集菌体;

[0087] (12) 将菌体涂布在His缺陷平板上培养2-3天,挑选单菌落;

[0088] (13) 通过3-5mg/mL G418的平板筛选出含有融合基因的毕赤酵母菌p-anc-L-gody-L-ftfx;

[0089] (14) 将毕赤酵母工程菌p-anc-L-gody-L-ftfx转接入含有10-15mL BMGY培养基带透气塞的50mL离心管,在28 $^{\circ}$ C,220rpm条件下进行摇床培养至OD600=4-5;

[0090] (15) 4000rpm离心10min收集菌体;

[0091] (16) 菌体重悬于BMM培养基,220rpm条件下进行摇床培养,每24h加0.5%甲醇诱导,培养4-5天,离心收集菌体;

[0092] (17) 以蔗糖为底物,使用全细胞催化蔗糖生产低聚果糖,反应体系如下:1ml底物(50%蔗糖)+10mg全细胞

[0093] 反应时间:5h

[0094] (18) 跑PLC检测酶切结果。结果如图2所示。

[0095] 以上实验结果表明,本方法将融合酶葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶展示在毕赤酵母表面,可以全细胞催化生产低聚果糖的同时消除葡萄糖对反应的抑制作用,相比将融合酶果糖基转移酶-葡萄糖氧化酶展示在毕赤酵母表面进行全细胞催化生产低聚果糖提高了低聚果糖的转化率。毕赤酵母表面展示融合酶葡萄糖氧化酶-果糖基转移酶比融合酶果糖基转移酶-葡萄糖氧化酶的酶活更高。因此,本发明可用于生产低聚果糖并提高低聚果糖的转化率。

[0096] 以上所述,仅是本发明的较佳实施例而已,并非对本发明作任何形式上的限制,虽然本发明已以较佳实施例揭示如上,然而并非用以限定本发明,任何本领域技术人员,在不脱离本发明技术方案范围内,当可利用上述揭示的技术内容做出些许更动或修饰为等同变化的等效实施例,但凡是未脱离本发明技术方案内容,依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简介修改、等同变化与修饰,均仍属于本发明技术方案的范围。



## 序列表

<120> 毕赤酵母、其制备方法及其在催化蔗糖生产低聚果糖中的应用

<160> 7

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 693

<212> DNA

<213> artificial sequence

<400> 1

```

atgagttacc ttaaaatttc tgccittctg tctgttctgt cagtcgcatt ggctgaccaa 60
agaatttccg ttactgttgt tggatgatgt atttacactg gattgcatc tgggtggttct 120
cattttgaag ctggtcctaa cgccgcaggt accccacttg acttgatcct ttatgagcct 180
tctggtttcc ttgttgatgc tgccgacct tctaagtac tcggttggga cgtcgctgct 240
ggactttga ctccctgcc acctgatcag ggaggaaaag attggggaat tgttgctgga 300
aacttacgat tcaatgttgg tggatcaact ttctacgcat gcgaaactcg aactggcgctt 360
tgggagggta aatcctacga agcttccggt tgtaacgcc ttgtcttgtc tgtggcctct 420
caccctgtgc cctctcagtc cagtacttcc tcaagtcatg caccacatc ttctgttcca 480
agtacatcct ctcatgttcc tccaaccaca acacagccac ctccatactac ttcatctcat 540
accattcaca cctcaactac cttgactact tcaggtagaa acgactcaaa ttcaaaccat 600
actattcctc ctgttccaac tggcgctgcc atgggtgtgt cctctaacta cggtttgctt 660
gtggctgctg gtatagccgc cgctgccttg ctg 693

```

<210> 2

<211> 1824

<212> DNA

<213> artificial sequence

<400> 2

```

atgcaagaca ccctggtaag tagtctggta gtgctgcttg ctgctccact gcactacatt 60
agatacaatg gtatcgaagc ttccttactt actgataacg acaaggacgt ctctggaaga 120
gttgattacg ctattcaagc tggcggtggc ttgaccattt taacgactgc tgatagatta 180
accgaaaatg tgaacatctc cgtggctcta gttatagaga gtcctagtga gagtgataga 240
ggacctatta acgaatcaga tttgaatgca tttgctgata ttttcggatc ctctgttgat 300
cattgggatt atgagactgt tcttgcaaca aaccataatc agcgtgcctt aattcgcttc 360
ggcatcaacg gtggtgggtc tacattgatc aacggtggtc gtacctggac cgteccaaag 420
gcccaagatg ttaacagttg ggagaccgtt ttcggtaatg aggcatggtc taacgataat 480
gtcgcggatt actcattggc tcaagccgaa atagctcgtg ctccctttta tgctaaacag 540
ttggtggac attactttaa cgaaccatct tgtcacggaa ccaatggagc tgttcatact 600
gctccaaggg acacagttga tatatattcc cctgttaaag ctttgatgtc tgcttcagag 660
gatcgaggag tccaaccaa gaaagccttt ggtaattgtg acccccacgg tgactcaatg 720

```

tttcctccaa ataatcttca cgaggatgtc agatcagatg ctgctagagg aaactggcta 780  
 ttgccatacc aaaggcctaa tctgcagggt tggacgggta tgcaatacgt gggtaagcta 840  
 cttgctcaga actacggtac aactcctcgt gccgtcggag tagagttcac taaaggcaag 900  
 ggtaatactc ataatgtggt tgccgagcac gttcaccttt tggccgctgg ccatgctggt 960  
 tctcctacta ttaggttggga gtctggcatt gttatgaaat ctattgagcc attgggtatt 1020  
 gctgatacag tggttgatat tcccgtcgggt cttaatctgc aaattcaaac tactatcgct 1080  
 accagatcaa gagttacatc tgctggtgca ggatcaggtc aagggtgcttg gttcgctact 1140  
 tttaatgaaa cgttcataga ttattctgag gccaccctg aattgttgaa cacaaagctt 1200  
 gaacaggctg ctgaagctgt cgctcaggtt ggaggttttc ataactctgc cgcattgatt 1260  
 cagtactacg aaaattacag agataacatt gtgaaccacg ttaatgttgc ctactcagag 1320  
 ttattggata ctgcaggagt tgcattccatg tttgccgttt gggatctgcc atttaccctg 1380  
 ggtaatgtcc atattcttga ctgggatcct cttttacatc attttgata cgaccctggt 1440  
 tactttcttg aaccactgga cttgttgggt cagcatgctg ccaactcaatt agctagaatc 1500  
 tcaaataatt ccggtgctat tcagacttac ttcgcaggag agacaattcc aggagatttg 1560  
 gcatacttcg tagcagattht gtctgcctgg actgagtacc attaccattht tcgtccaaat 1620  
 atctatcacg taaaaacatg ttctatgatg ccaaaggagt tcatgggaat cgtagttaat 1680  
 gcagcaagag tgtacgggta tacgcagttg agagtgattg atggttccat acctccacaa 1740  
 gatatgtcct ctcatgttat gacggtattht atcgtctgctt tacaaaaaat ttccgacgct 1800  
 attttagaag cttattcaat gcaa 1824

<210> 3

<211> 1575

<212> DNA

<213> artificial sequence

<400> 3

atgggtgatta agactccatt tattcctgca ctggcagccg ctgctcaggc atcatactcc 60  
 ggtgatttag aaccactgca aactcattcc cctccaagta attttatggg tgatccagga 120  
 aacggctctgt tcaacgacag taaacgtgga gtttatcata gtctttatca atataattht 180  
 actgccactg tcgcaggaaa tcagcaggga catgccacgt caccagactt ggatcattgg 240  
 actaaccaag gaatcgcatt ggccgggtgat aaagacgagg aatacattht ctctgggggt 300  
 tccgctgttc catctaacaa cacctccggt tttttccag atgatcagga cgatgggtatt 360  
 gtaatctaca ccgttgatac acccaccctg gaaaccgagc aagatatcgc ttactcaagg 420  
 gacggtggta cattcactaa atacgaaaac aatcccgttt tcgactctat tggttctaag 480  
 cagttccgta tcccccaagt agtctggcat atggagactc agcaatgggt aatgcatatt 540  
 gcttacgttg cccaagattht ggttattht tacacctgct ctaaccttaa agactggacg 600  
 gcctctaatt tattttcaca ggaaggactt cccggtgacc aatthtgatg cccaattht 660  
 aagthttcct ttgacagggc agtgtccgaa gaaaccaagt caaagthtag tctgttcatt 720  
 tcagtagccc cagggtctcc tctacaggga tctggtactt tctacgtggg cggtgacgac 780  
 aacactactc atthtacctc tgaggtggca caagaaactt tggatthtga caaggacaat 840  
 cgthtatgcag ctacgctata ctctggtatt gaaaatgaac ctccagtgtc tattggttht 900

tgggctagta actgggacta cactgagaga gtgataccta caggtcctct ggaaggctgg 960  
 cgagcccaga cattgcctag agcccacaca ttgactttgg tcaacagtgt atggactgta 1020  
 actcattctc cttttgaggg attggatgct ttgaaattca gacaacttgt ctctaagtct 1080  
 ggacacagtg gtgatgttaa gaatthtagt ggagttgttt tttcaaacgc tgthttattht 1140  
 gatgtaacc taaaaggcgg agatgtggtt gccaaaccta ctggaagagt thttaatatc 1200  
 actacctcaa gtgtthctgg tgaatthttg gatggtctag tatctthgct ggattcatca 1260  
 thctggattt caagagcagg tgcccattg thtacaattg aagataacgg taattatagt 1320  
 tctagtacaa ccacctctc thcctthgct aatggtactt thagthtctg ctctggcaga 1380  
 gatcgatcag gtthtgaagt atthctagga caagatggaa tccaatctgg thttgatatg 1440  
 actthctthc catctaaact agatacctg gctgtatctg ctgaggataa cggatgata 1500  
 tcagcttccg thagtgttaa ggcttcaggt thgagtggtt ggaacagtac aacagctagt 1560  
 aagcgtthcg tggca 1575

<210> 4

<211> 45

<212> DNA

<213> artificial sequence

<400> 4

ggaggagtg gttcaggtg aggaggtagt ggtggagtg gttca 45

<210> 5

<211> 4236

<212> DNA

<213> artificial sequence

<400> 5

gagaggctga agcttacgta gaattcatga gttacctaa aatthctgcc thtctgtctg 60  
 thctgtcagt cgattggct gaccaaagaa thtccgttac tgttgthggt gatggtatth 120  
 aactggatt gcatctggt ggttctcatt thgaagctgg tcctaacgcc gcaggtacc 180  
 cacttgactt gatccttht gagcctctg thtctctgt tgatgctgcc gaccattcta 240  
 agtacgtcgg thgggacgtc gctgctgta cthgacttc cctgccacct gatcaggag 300  
 gaaaagattg ggaattgth gctggaaact tacgattcaa tgttgthggt acaacttht 360  
 acgcatgcga aactcgaact ggcgtthgg aggttaaact ctacgaagct tccgthtga 420  
 acgccgttht cthgtctgt gctctcacc ctgtgcctc tcagthcagt actthctca 480  
 gthcatgcacc cacatctct gthccaagta cactctctca ththtctca accacaacac 540  
 agccacctca tactacttca thctatacca thcacctc aactacttg actacttcag 600  
 gtgaaaacga ctcaaatca aaccatacta thctctctgt tccaactggc gthgcatgg 660  
 gthgtctctc taactacggt thgctthggt ctgctggtat agccgccgt gcctthctgg 720  
 gaggaggtg thcaggtgga ggaggtagt gthgaggtg thcaatgthg thtaagactc 780  
 catthattcc thcactggca gccgtgctc aggcatacta ctccgthgat thagaaccac 840  
 thcaaaccta thccctcca agtaatthta thgggtgthc aggaacggt ctgthcaac 900  
 acagtaaacg thgagthtth catagthtth atcaatataa thtactgcc actgthcag 960

gaaatcagca gggacatgcc acgtcaccag acttggatca ttggactaac caaggaatcg 1020  
 cattggccgg tgataaagac gaggaataca ttttctctg gggttccgct gttccatcta 1080  
 acaacacctc cggttttttt ccagatgac aggacgatgg tattgtaatc tacaccgttg 1140  
 atacaccac cctggaaacc gagcaagata tcgcttactc aaggacggt ggtacattca 1200  
 ctaaatacga aaacaatccc gttatcgact ctattggttc taagcagttc cgtatcccc 1260  
 aagtagtctg gcatatggag actcagcaat gggtaatgca tattgcttac gttgcccaag 1320  
 atttggttat tttctacacc ttgcctaacc ttaaagactg gacggcctct aatttatttt 1380  
 cacaggaagg acttcccggg gaccaatttg aatgcccaaa tttgaagttt tcctttgaca 1440  
 gggcagtgtc cgaagaaacc aagtcaaagt ttagtctggt catttcagta gccccaggtg 1500  
 ctctctaca gggatctggt actttctacg tggtcgggtga cgacaacact actcatttta 1560  
 cctctgaggt ggcacaagaa actttggatt ttgacaagga caatcgttat gcagctcagc 1620  
 tatactctgg tattgaaaat gaacctccag tgtctattgg tttctgggct agtaactggg 1680  
 actacactga gagagtgata cctacaggtc ctctggaagg ctggcgagcc cagacattgc 1740  
 ctagagccca cacattgact ttggtcaaca gtgtatggac tgtaactcat tctccttttg 1800  
 agggattgga tgctttgaaa ttcagacaac ttgtctctaa gtctggacac agtgggtgatg 1860  
 ttaagaattt tagtggagtt gttttttcaa acgctgttta ttttgatgta accctaaaag 1920  
 gcggagatgt ggttgccaaa cctactggaa gagtttttaa tactactacc tcaagtgttt 1980  
 ctggtgaatt tttggatggt ctagtatctt tgctggattc atcattctgg atttcaagag 2040  
 caggtgcca tttgtttaca attgaagata acgtaatta tagttctagt acaaccacca 2100  
 tctcttcctt tgctaatggt acttttagtt tcgtctctgg cagagatcga tcagtgtttg 2160  
 aagtatctt aggacaagat ggaatccaat ctggttttga tatgactttc tttccatcta 2220  
 aactagatac cttggctgta tctgctgagg ataacggtga tagatcagct tccgttagtg 2280  
 ttaaggcttc aggtttgagt ggttgaaca gtacaacagc tagtaagcgt ttcgtggcag 2340  
 gaggaggtgg ttcaggtgga ggaggtagt gtggaggtgg ttcaatgca gacaccctgg 2400  
 taagtagtct ggtagtgct cttgctgctc cactgcacta cattagatac aatggtatcg 2460  
 aagcttcctt acttactgat aacgacaagg acgtctctgg aagagttgat tacgctattc 2520  
 aagctggcgg tggcttgacc attttaacga ctgctgatag attaaccgaa aatgtgaaca 2580  
 tctccgtggc tctagttata gagagtcta gtgagagtga tagaggacct attaacgaat 2640  
 cagatttgaa tgcatttgc gatattttcg gatcctctgt tgatcattgg gattatgaga 2700  
 ctgttcttgc aacaaacct aatcagcgtg ctttaattcg ttccggcatc aacggtggtg 2760  
 gttctacatt gatcaacggt ggtcgtacct ggaccgtccc aaaggccca gatgttaaca 2820  
 gttgggagac cgttttcggt aatgagcat ggtctaacga taatgtcgcc gattactcat 2880  
 tggctcaagc cgaatagct cgtgctcctt ttaatgctaa acagttggct ggacattact 2940  
 ttaacgaacc atcttgtcac ggaaccaatg gagctgttca tactgctcca agggacacag 3000  
 ttgatataata tccccctgtt aaagctttga tgtctgcttc agaggatcga ggagtccca 3060  
 ccaagaaagc ctttggtaat tgtgacccc acggtgactc aatgtttcct ccaataatc 3120  
 ttcacgagga tgcagatca gatgctgcta gaggaaactg gctattgcca taccaaaggc 3180  
 ctaatctgca ggtttggac ggtatgcaat acgtgggtaa gctacttgct cagaactacg 3240  
 gtacaactcc tcgtgccgct ggagtagagt tcactaaagg caagggtaat actcataatg 3300

tggttgccga gcacgttcac cttttggccg ctggccatgc tgtttctcct actattaggt 3360  
 tggagtctgg cattgttatg aaatctattg agccattggg tattgctgat acagtggttg 3420  
 atattcccgt cggctctaat ctgcaaattc aaactactat cgctaccaga tcaagagtta 3480  
 catctgctgg tgcaggatca ggtcaagggt cttggttcgc tacttttaat gaaacgttca 3540  
 tagattattc tgaggcccac cctgaattgt tgaacacaaa gcttgaacag gctgctgaag 3600  
 ctgtcgcctcg agttggaggt tttcataaca ctgccgcatt gattcagtac tacgaaaatt 3660  
 acagagataa cattgtgaac cacgttaatg ttgcctactc agagtattg gatactgcag 3720  
 gagttgcatc catgtttgcc gtttgggatc tgccatttac ccgtggtaat gtccatattc 3780  
 ttgactggga tctctcttta catcattttg catacgacc tgtttacttt cttgaaccac 3840  
 tggacttggt gggtcagcat gctgccactc aattagctag aatctcaaat aattccgggtg 3900  
 ctattcagac ttacttcgca ggagagacaa ttccaggaga tttggcatac ttcgtagcag 3960  
 atttgtctgc ctggactgag taccattacc atttctgtec aaatatctat cacgtaaaaa 4020  
 catgttctat gatgccaaag gagttcatgg gaatcgtagt taatgcagca agagtgtacg 4080  
 gtgatacgca gttgagagtg attgatggtt ccatacctcc acaagatatg tctctctatg 4140  
 ttatgacggg atttatcgtt gctttacaaa aaatttccga cgctatttta gaagcttatt 4200  
 caatgcaagc ggccgcgaat taattcgcct tagaca 4236

<210> 6

<211> 4236

<212> DNA

<213> artificial sequence

<400> 6

gagaggctga agcttacgta gaattcatga gttaccttaa aatttctgcc tttctgtctg 60  
 ttctgtcagt cgcatggct gaccaaagaa tttccgttac tgttgttggt gatggatttt 120  
 aactggatt gcgatctggt ggttctcatt ttgaagctgg tectaaccgc gcaggtacc 180  
 cacttgactt gatcctttat gagccttctg gtttcttctg tgatgctgcc gaccattcta 240  
 agtacgtcgg ttgggacgtc gctgctggta cttgacttc cctgccacct gatcaggag 300  
 gaaaagattg gggaaattgt gctggaaact tacgattcaa tgttggtggt acaactttct 360  
 acgcatgcga aactcgaact ggcgtttggg aggttaaate ctacgaagct tccggttgta 420  
 acgccgttgt cttgtctgtg gcctctcacc ctgtgccctc tcagtccagt acttctctca 480  
 gtcatgcacc cacatcttct gttccaagta catctctca tgtttctcca accacaacac 540  
 agccacctca tactacttca tctcatacca ttcacacctc aactacctg actacttcag 600  
 gtgaaaacga ctcaaattca aaccatacta ttctctctgt tccaactggc gctgccatgg 660  
 gtgtgtcctc taactacggt ttgcttgtgg ctgctggtat agccgccgct gccttgctgg 720  
 gaggagtggt ttcaggtgga ggaggtagt gtggaggtgg ttcaatgca gacaccctgg 780  
 taagtagtct ggtagtgctg cttgctgctc cactgcacta cattagatac aatggtatcg 840  
 aagcttctt acttactgat aacgacaagg acgtctctgg aagagttgat tacgctatct 900  
 aagctggcgg ttgcttgacc attttaacga ctgctgatag attaaccgaa aatgtgaaca 960  
 tctccgtggc tctagttata gagagtcta gtgagagtga tagaggacct attaacgaat 1020  
 cagatttgaa tgcatttgct gatattttcg gatcctctgt tgatcattgg gattatgaga 1080

ctgttcttgc aacaacccat aatcagcgtg ccttaattcg ttccggcatc aacggtggtg 1140  
 gttctacatt gatcaacggt ggtcgtacct ggaccgtccc aaaggcccaa gatgttaaca 1200  
 gttgggagac cgttttcggg aatgaggcat ggtctaacga taatgtcgcc gattactcat 1260  
 tggctcaagc cgaaatagct cgtgctcctt ttaatgctaa acagttggct ggacattact 1320  
 ttaacgaacc atcttgtcac ggaaccaatg gagctgttca tactgctcca aggacacag 1380  
 ttgatataata ttcccctgtt aaagctttga tgtctgcttc agaggatcga ggagtcccaa 1440  
 ccaagaaagc ctttggtaat tgtgaccccc acggtgactc aatgtttcct ccaataatc 1500  
 ttcacgagga tgcagatca gatgctgcta gaggaaactg gctattgcca taccaaaggc 1560  
 ctaatctgca ggtttggacg ggtatgcaat acgtgggtaa gctacttgct cagaactacg 1620  
 gtacaactcc tcgtgccgtc ggagtagagt tactaaagg caagggtaat actcataatg 1680  
 tggttgccga gcacgttcac cttttggccg ctggccatgc tgtttctct actattaggt 1740  
 tggagtctgg cattgttatg aaatctattg agccattggg tattgctgat acagtggttg 1800  
 atattcccgt cggctttaat ctgcaaattc aaactactat cgctaccaga tcaagagtta 1860  
 catctgctgg tgcaggatca ggtcaagggt cttggttcgc tacttttaat gaaacgttca 1920  
 tagattattc tgaggcccac cctgaattgt tgaacacaaa gcttgaacag gctgctgaag 1980  
 ctgtcgtcgc agttggaggt tttcataaca ctgccgcat gattcagtac tacgaaaatt 2040  
 acagagataa cattgtgaac cacgttaatg ttgcctactc agagttattg gatactgcag 2100  
 gagttgcatc catgtttgcc gtttgggatc tgccatttac ccgtggtaat gtccatattc 2160  
 ttgactggga tcctccttta catcattttg catacgacc tgtttacttt cttgaaccac 2220  
 tggacttggt gggtcagcat gctgccactc aattagctag aatctcaaat aattccggtg 2280  
 ctattcagac ttacttcgca ggagagacaa ttccaggaga tttggcatac ttcgtagcag 2340  
 atttgtctgc ctggactgag taccattacc atttcgtcc aaatatctat cacgtaaaaa 2400  
 catgttctat gatgcccag gagttcatgg gaatcgtagt taatgcagca agagtgtacg 2460  
 gtgatacgca gttgagagt attgatggtt ccatactcc acaagatatg tcctctcatg 2520  
 ttatgacggg atttatcgt gctttacaaa aaatttccga cgctatttta gaagcttatt 2580  
 caatgcaagg aggaggtggt tcaggtggag gaggtagtgg tggaggtggt tcaatggtga 2640  
 ttaagactcc atttattcct gcaactggcag ccgctgctca ggcatcatac tccggtgatt 2700  
 tagaaccact gcaaacctcat tcccctcaa gtaattttat gggatgacca gaaacggctc 2760  
 tgttcaacga cagtaaactg ggagtttacc atagtcttta tcaatataat ttcactgcca 2820  
 ctgtcgcagg aatcagcag ggacatgcca cgtcaccaga cttggatcat tggactaacc 2880  
 aaggaatcgc attggccggt gataaagacg aggaatacat tttctcctgg ggttccgctg 2940  
 ttccatctaa caacacctc ggtttttttc cagatgatca ggacgatggt attgtaatct 3000  
 acaccgttga tacaccacc ctggaaaccg agcaagatat cgcttactca agggacgggtg 3060  
 gtacattcac taaatacga aacaatccc ttatcgactc tattggttct aagcagttcc 3120  
 gtatcccca agtagtctgg catatggaga ctgagcaatg ggtaatgcat attgcttacg 3180  
 ttgccaaga tttggttatt ttctacacct tgctaacct taaagactgg acggcctcta 3240  
 atttattttc acaggaagga cttcccgggt accaatttga atgcccacaa ttgaagtttt 3300  
 cctttgacag ggcagtgtcc gaagaaacca agtcaaagtt tagtctgttc atttcagtag 3360  
 ccccagggtc tcctctacag ggatctggtc ctttctacgt ggtcgggtgac gacaacacta 3420

ctcattttac ctctgagggtg gcacaagaaa ctttgattt tgacaaggac aatcgttatg 3480  
cagctcagct atactctggt attgaaaatg aacctccagt gtctattggt ttctgggcta 3540  
gtaactggga ctacactgag agagtgatac ctacaggtcc tctggaaggc tggcgagccc 3600  
agacattgcc tagagcccac acattgactt tggtaacag tgtatggact gtaactcatt 3660  
ctccttttga gggattgat gctttgaaat tcagacaact tgtctctaag tctggacaca 3720  
gtggatgatg taagaatatt agtggagttg tttttcaaa cgctgtttat tttgatgtaa 3780  
ccctaaaagg cggagatgtg gttgccaac ctactggaag agtttttaat atcactacct 3840  
caagtgttcc tgggaattt ttggatggtc tagtatcttt gctggattca tcattctgga 3900  
tttcaagagc aggtgcccac ttgtttacaa ttgaagataa cggtaattat agttctagta 3960  
caaccaccat ctcttcttt gctaattgta cttttagttt cgtctctggc agagatcgat 4020  
cagtgtttga agtatttcta ggacaagatg gaatccaatc tggttttgat atgactttct 4080  
ttccatctaa actagatacc ttggetgtat ctgctgagga taacggatgat agatcagctt 4140  
ccgttagtgt taaggettca ggtttgagtg gttggaacag tacaacagct agtaagcgtt 4200  
tcgtggcagc ggccgcgaat taattgcct tagaca 4236

<210> 7

<211> 1398

<212> PRT

<213> artificial sequence

<400> 7

Met	Ser	Tyr	Leu	Lys	Ile	Ser	Ala	Phe	Leu	Ser	Val	Leu	Ser	Val	Ala
1			5						10					15	
Leu	Ala	Asp	Gln	Arg	Ile	Ser	Val	Thr	Val	Val	Gly	Asp	Gly	Ile	Tyr
			20						25					30	
Thr	Gly	Leu	Arg	Ser	Gly	Gly	Ser	His	Phe	Glu	Ala	Gly	Pro	Asn	Ala
			35						40					45	
Ala	Gly	Thr	Pro	Leu	Asp	Leu	Ile	Leu	Tyr	Glu	Pro	Ser	Gly	Phe	Leu
			50						55					60	
Val	Asp	Ala	Ala	Asp	His	Ser	Lys	Tyr	Val	Gly	Trp	Asp	Val	Ala	Ala
65					70					75					80
Gly	Thr	Leu	Thr	Ser	Leu	Pro	Pro	Asp	Gln	Gly	Gly	Lys	Asp	Trp	Gly
					85					90					95
Ile	Val	Ala	Gly	Asn	Leu	Arg	Phe	Asn	Val	Gly	Gly	Thr	Thr	Phe	Tyr
					100					105					110
Ala	Cys	Glu	Thr	Arg	Thr	Gly	Val	Trp	Glu	Val	Lys	Ser	Tyr	Glu	Ala
					115					120					125
Ser	Gly	Cys	Asn	Ala	Val	Val	Leu	Ser	Val	Ala	Ser	His	Pro	Val	Pro
					130					135					140
Ser	Gln	Ser	Ser	Thr	Ser	Ser	Ser	His	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Val	Pro
145					150					155					160

Ser Thr Ser Ser His Val Ser Pro Thr Thr Thr Gln Pro Pro His Thr  
 165 170 175  
 Thr Ser Ser His Thr Ile His Thr Ser Thr Thr Leu Thr Thr Ser Gly  
 180 185 190  
 Arg Asn Asp Ser Asn Ser Asn His Thr Ile Pro Pro Val Pro Thr Gly  
 195 200 205  
 Ala Ala Met Gly Val Ser Ser Asn Tyr Gly Leu Leu Val Ala Ala Gly  
 210 215 220  
 Ile Ala Ala Ala Ala Leu Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Gln Asp Thr Leu Val Ser Ser Leu Val  
 245 250 255  
 Val Leu Leu Ala Ala Pro Leu His Tyr Ile Arg Tyr Asn Gly Ile Glu  
 260 265 270  
 Ala Ser Leu Leu Thr Asp Asn Asp Lys Asp Val Ser Gly Arg Val Asp  
 275 280 285  
 Tyr Ala Ile Gln Ala Gly Gly Gly Leu Thr Ile Leu Thr Thr Ala Asp  
 290 295 300  
 Arg Leu Thr Glu Asn Val Asn Ile Ser Val Ala Leu Val Ile Glu Ser  
 305 310 315 320  
 Pro Ser Glu Ser Asp Arg Gly Pro Ile Asn Glu Ser Asp Leu Asn Ala  
 325 330 335  
 Phe Ala Asp Ile Phe Gly Ser Ser Val Asp His Trp Asp Tyr Glu Thr  
 340 345 350  
 Val Leu Ala Thr Asn His Asn Gln Arg Ala Leu Ile Arg Ser Gly Ile  
 355 360 365  
 Asn Gly Gly Gly Ser Thr Leu Ile Asn Gly Gly Arg Thr Trp Thr Val  
 370 375 380  
 Pro Lys Ala Gln Asp Val Asn Ser Trp Glu Thr Val Phe Gly Asn Glu  
 385 390 395 400  
 Ala Trp Ser Asn Asp Asn Val Ala Asp Tyr Ser Leu Ala Gln Ala Glu  
 405 410 415  
 Ile Ala Arg Ala Pro Phe Asn Ala Lys Gln Leu Ala Gly His Tyr Phe  
 420 425 430  
 Asn Glu Pro Ser Cys His Gly Thr Asn Gly Ala Val His Thr Ala Pro  
 435 440 445  
 Arg Asp Thr Val Asp Ile Tyr Ser Pro Val Lys Ala Leu Met Ser Ala  
 450 455 460  
 Ser Glu Asp Arg Gly Val Pro Thr Lys Lys Ala Phe Gly Asn Cys Asp



465	470	475	480
Pro His Gly Asp Ser Met Phe Pro Pro Asn Asn Leu His Glu Asp Val			
	485	490	495
Arg Ser Asp Ala Ala Arg Gly Asn Trp Leu Leu Pro Tyr Gln Arg Pro			
	500	505	510
Asn Leu Gln Val Trp Thr Gly Met Gln Tyr Val Gly Lys Leu Leu Ala			
	515	520	525
Gln Asn Tyr Gly Thr Thr Pro Arg Ala Val Gly Val Glu Phe Thr Lys			
	530	535	540
Gly Lys Gly Asn Thr His Asn Val Val Ala Glu His Val His Leu Leu			
545	550	555	560
Ala Ala Gly His Ala Val Ser Pro Thr Ile Arg Leu Glu Ser Gly Ile			
	565	570	575
Val Met Lys Ser Ile Glu Pro Leu Gly Ile Ala Asp Thr Val Val Asp			
	580	585	590
Ile Pro Val Gly Leu Asn Leu Gln Ile Gln Thr Thr Ile Ala Thr Arg			
	595	600	605
Ser Arg Val Thr Ser Ala Gly Ala Gly Ser Gly Gln Gly Ala Trp Phe			
	610	615	620
Ala Thr Phe Asn Glu Thr Phe Ile Asp Tyr Ser Glu Ala His Pro Glu			
625	630	635	640
Leu Leu Asn Thr Lys Leu Glu Gln Ala Ala Glu Ala Val Ala Arg Val			
	645	650	655
Gly Gly Phe His Asn Thr Ala Ala Leu Ile Gln Tyr Tyr Glu Asn Tyr			
	660	665	670
Arg Asp Asn Ile Val Asn His Val Asn Val Ala Tyr Ser Glu Leu Leu			
	675	680	685
Asp Thr Ala Gly Val Ala Ser Met Phe Ala Val Trp Asp Leu Pro Phe			
	690	695	700
Thr Arg Gly Asn Val His Ile Leu Asp Trp Asp Pro Pro Leu His His			
705	710	715	720
Phe Ala Tyr Asp Pro Val Tyr Phe Leu Glu Pro Leu Asp Leu Leu Gly			
	725	730	735
Gln His Ala Ala Thr Gln Leu Ala Arg Ile Ser Asn Asn Ser Gly Ala			
	740	745	750
Ile Gln Thr Tyr Phe Ala Gly Glu Thr Ile Pro Gly Asp Leu Ala Tyr			
	755	760	765
Phe Val Ala Asp Leu Ser Ala Trp Thr Glu Tyr His Tyr His Phe Arg			
	770	775	780

Pro Asn Ile Tyr His Val Lys Thr Cys Ser Met Met Pro Lys Glu Phe																			
785					790					795									800
Met Gly Ile Val Val Asn Ala Ala Arg Val Tyr Gly Asp Thr Gln Leu																			
					805					810									815
Arg Val Ile Asp Gly Ser Ile Pro Pro Gln Asp Met Ser Ser His Val																			
					820					825									830
Met Thr Val Phe Ile Ala Ala Leu Gln Lys Ile Ser Asp Ala Ile Leu																			
					835					840									845
Glu Ala Tyr Ser Met Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser																			
					850					855									860
Gly Gly Gly Gly Ser Met Val Ile Lys Thr Pro Phe Ile Pro Ala Leu																			
865					870					875									880
Ala Ala Ala Ala Gln Ala Ser Tyr Ser Gly Asp Leu Glu Pro Leu Gln																			
					885					890									895
Thr His Ser Pro Pro Ser Asn Phe Met Gly Asp Pro Gly Asn Gly Leu																			
					900					905									910
Phe Asn Asp Ser Lys Arg Gly Val Tyr His Ser Leu Tyr Gln Tyr Asn																			
					915					920									925
Phe Thr Ala Thr Val Ala Gly Asn Gln Gln Gly His Ala Thr Ser Pro																			
					930					935									940
Asp Leu Asp His Trp Thr Asn Gln Gly Ile Ala Leu Ala Gly Asp Lys																			
945					950					955									960
Asp Glu Glu Tyr Ile Phe Ser Trp Gly Ser Ala Val Pro Ser Asn Asn																			
					965					970									975
Thr Ser Gly Phe Phe Pro Asp Asp Gln Asp Asp Gly Ile Val Ile Tyr																			
					980					985									990
Thr Val Asp Thr Pro Thr Leu Glu Thr Glu Gln Asp Ile Ala Tyr Ser																			
					995					1000									1005
Arg Asp Gly Gly Thr Phe Thr Lys Tyr Glu Asn Asn Pro Val Ile Asp																			
					1010					1015									1020
Ser Ile Gly Ser Lys Gln Phe Arg Ile Pro Gln Val Val Trp His Met																			
1025					1030					1035									1040
Glu Thr Gln Gln Trp Val Met His Ile Ala Tyr Val Ala Gln Asp Leu																			
					1045					1050									1055
Val Ile Phe Tyr Thr Leu Pro Asn Leu Lys Asp Trp Thr Ala Ser Asn																			
					1060					1065									1070
Leu Phe Ser Gln Glu Gly Leu Pro Gly Asp Gln Phe Glu Cys Pro Asn																			
					1075					1080									1085
Leu Lys Phe Ser Phe Asp Arg Ala Val Ser Glu Glu Thr Lys Ser Lys																			

1090	1095	1100
Phe Ser Leu Phe Ile Ser Val Ala Pro Gly Ala Pro Leu Gln Gly Ser		
1105	1110	1115
Gly Thr Phe Tyr Val Val Gly Asp Asp Asn Thr Thr His Phe Thr Ser		
	1125	1130
Glu Val Ala Gln Glu Thr Leu Asp Phe Asp Lys Asp Asn Arg Tyr Ala		
	1140	1145
Ala Gln Leu Tyr Ser Gly Ile Glu Asn Glu Pro Pro Val Ser Ile Gly		
	1155	1160
Phe Trp Ala Ser Asn Trp Asp Tyr Thr Glu Arg Val Ile Pro Thr Gly		
1170	1175	1180
Pro Leu Glu Gly Trp Arg Ala Gln Thr Leu Pro Arg Ala His Thr Leu		
1185	1190	1195
Thr Leu Val Asn Ser Val Trp Thr Val Thr His Ser Pro Phe Glu Gly		
	1205	1210
Leu Asp Ala Leu Lys Phe Arg Gln Leu Val Ser Lys Ser Gly His Ser		
	1220	1225
Gly Asp Val Lys Asn Phe Ser Gly Val Val Phe Ser Asn Ala Val Tyr		
1235	1240	1245
Phe Asp Val Thr Leu Lys Gly Gly Asp Val Val Ala Lys Pro Thr Gly		
1250	1255	1260
Arg Val Phe Asn Ile Thr Thr Ser Ser Val Ser Gly Glu Phe Leu Asp		
1265	1270	1275
Gly Leu Val Ser Leu Leu Asp Ser Ser Phe Trp Ile Ser Arg Ala Gly		
	1285	1290
Ala His Leu Phe Thr Ile Glu Asp Asn Gly Asn Tyr Ser Ser Ser Thr		
	1300	1305
Thr Thr Ile Ser Ser Phe Ala Asn Gly Thr Phe Ser Phe Val Ser Gly		
1315	1320	1325
Arg Asp Arg Ser Val Phe Glu Val Phe Leu Gly Gln Asp Gly Ile Gln		
1330	1335	1340
Ser Gly Phe Asp Met Thr Phe Phe Pro Ser Lys Leu Asp Thr Leu Ala		
1345	1350	1355
Val Ser Ala Glu Asp Asn Gly Asp Arg Ser Ala Ser Val Ser Val Lys		
	1365	1370
Ala Ser Gly Leu Ser Gly Trp Asn Ser Thr Thr Ala Ser Lys Arg Phe		
	1380	1385
Val Ala Ala Ala Ala Asn		
1395		

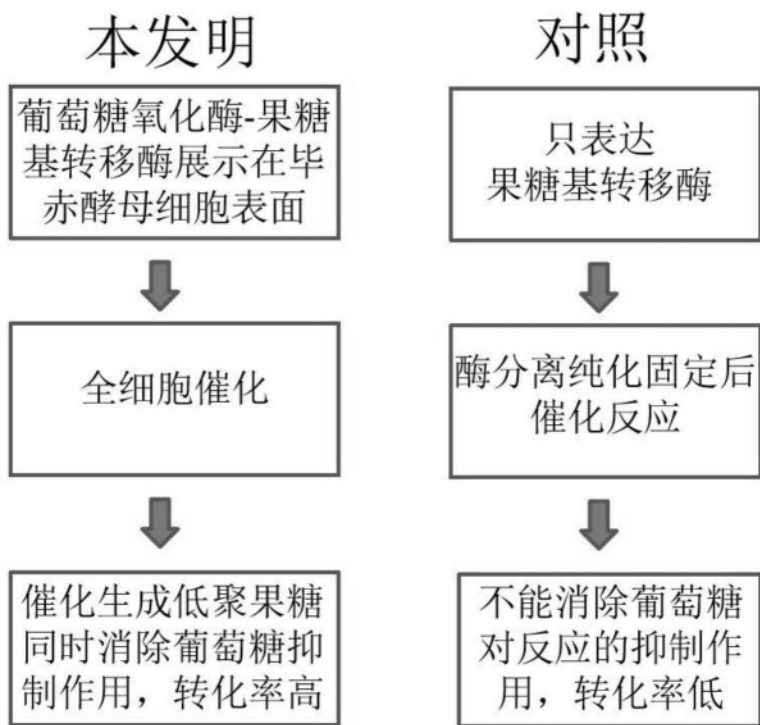


图1

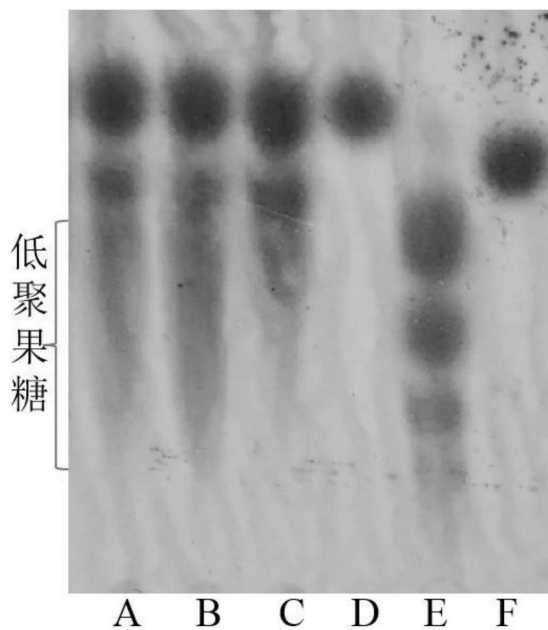


图2